PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:
A61K 31/335, 9/107

A1
(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/16770
(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum: 30. März 2000 (30.03.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/07059

(22) Internationales Anmeldedatum:

22. September 1999

(22.09.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 43 968.7

24. September 1998 (24.09.98) DE

(71)(72) Anmelder und Erfinder: DIETL, Hans [DE/DE]; Eichendorffstrasse 33, D-83043 Bad Aibling (DE).

(74) Anwalt: BEHNISCH, Werner, Reinhard-Skuhra-Weise & Partner GbR, Friedrichstrasse 31, D-80801 München (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, KZ, LT, LU, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SE, SG, SI, SK, TR, UA, US, UZ, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: PHARMACEUTICAL PREPARATION CONTAINING TAXANE AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

(54) Bezeichnung: TAXANE ENTHALTENDE PHARMAZEUTISCHE ZUBEREITUNG UND VERFAHREN ZU IHRER HERSTEL-LUNG

(57) Abstract

The invention relates to a pharmaceutical preparation containing taxane, said preparation being in the form of an oil-in-water emulsion. The inventive pharmaceutical preparation is characterised in that it contains at least one taxane, at least one triglyceride of fatty acids with 2 – 22 carbon atoms, 3-sn-phosphatidylcholine and/or phosphatidylethanolamine and alkaline salts of free fatty acids and water and essentially no synthetic non-ionic emulsifiers.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung offenbart eine Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung in Form einer Öl-in-Wasser-Emulsion, dadurch gekennzeichnet, daß sie zumindest ein Taxan, zumindest ein Triglycerid von Fettsäuren mit 2 – 22 Kohlenstoffatomen, 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Alkalisalze freier Fettsäuren und Wasser, jedoch im wesentlichen keine synthetischen nicht-ionischen Emulgatoren, enthält.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
ΑT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	ΙE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi .	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PΤ	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumănien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LŘ	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung und Verfahren zu ihrer Herstellung

Beschreibung

Hintergrund der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine neue Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung, ein Herstellungsverfahren für diese pharmazeutische Zubereitung und ihre Verwendung insbesondere zur intravenösen Applikation.

Taxane sind anticancerogene Arzneimittel, die strukturell einen Taxankern besitzen, der aus einem Diterpene-Kohlenstoffgerüst besteht (M. T. Huizing et al.: Cancer Investigation 13, S. 381-404 (1995)).

Seine wichtigsten Vertreter sind Paclitaxel (Taxol) und Docetaxel.

Taxane wie z. B. Paclitaxel und Docetaxel werden bei oraler Verabreichung nur sehr schlecht resorbiert und werden daher mittels intravenöser Infusion verabreicht.

Taxane sind nur wenig wasserlöslich. Dies führt zu ernsthaften Problemen in der Anwendung von Taxanen, da eine einfache wasserlösliche pharmazeutische Zubereitung nicht möglich ist. Die bisher verwendeten pharmazeutischen Formulierungen zur intravenösen Anwendung von Taxanen enthalten als Lösungsmittel große Mengen an nicht-ionischen Emulgatoren wie z. B. Polyoxyethylen-Rizinusöl, Polysorbat sowie Alkohol.

So enthält beispielsweise eine handelsübliche Formulierung in einem Milliliter nur 6 mg Paclitaxel, aber 520 mg Polyoxyethylen-Rizinusöl und 450 mg Äthylenalkohol. Eine andere pharmazeutische Formulierung enthält in einem Milliliter 20 mg Docetaxel, gelöst in dem nicht-ionischen Emulgator Polysorbat 80.

Die vorliegenden pharmazeutischen Formulierungen sind mit zahlreichen schwerwiegenden Nachteilen verbunden, da bei der Verabreichung der pharmazeutisch wirksamen Mengen von Taxanen

in Höhe von ca. 200 - 500 mg pro Anwendung ca. 20 - 40 g der nicht-ionischen Emulgatoren verabreicht werden.

Die Formulierungen bereiten Probleme mit der Handhabung, da sie vor der Anwendung mit anderen Infusionslösungen wie z.B.
Kochsalz, Glukose verdünnt werden müssen. Dies führt zu
Problemen mit der Stabilität (Ausfällung des Wirkstoffs).
Außerdem müssen Filtersysteme verwendet werden.
Kunststoffbehältnisse dürfen nicht verwendet werden.

Noch schwerwiegender sind die Probleme aufgrund von Nebenwirkungen der verwendeten nicht-ionischen Lösungsmittel. Da diese schwere anaphylaktische Schocks auslösen können, ist vor der Anwendung eine Prämedikation mit Kortikosteroiden, Antibistaminika und H2-Antagonisten notwendig. Die Lösungsmittel sind außerdem nephrotoxisch, zelltoxisch und kardiotoxisch. Sie haben zudem einen ungünstigen Einfluß auf die Pharmakokinetik und die Verteilung von Taxanen im Organismus. Wahrscheinlich verringern die verwendeten Lösungsmittel sogar die klinische Wirksamkeit der Taxane.

Da die für Taxane verwendeten Lösungsmittel einen entscheidenden Anteil an den Nebenwirkungen der Taxane bzw. ihrer Wirksamkeit haben, ist die Entwicklung alternativer, verbesserter Darreichungsformen, die insbesondere keine oder nur geringe Mengen an nicht-ionischen Emulgatoren enthalten sollen, von entscheidender Bedeutung und eine pharmazeutische Herausforderung (vgl. dazu: J. M. Meerum Terwogt et al.: Alternative formulation of paclitaxel. Cancer Treatment Reviews 23, 87-89 (1997) sowie J. D. Adams et al.: Taxol: A History of Pharmaceutical Development and Current Pharmaceutical Concerns. Monogr. Natl. Cancer Invest. 15, 141-147 (1993); J. D. JonkmandeVries et al.: Pharmaceutical Development of (Investigational) Anticancer Agents for Parenteral Use - A Review. Drug Develop. Indust. Pharmacy 22, 475 (1996)).

Im folgenden werden die wichtigsten alternativen Darreichungsformen von Taxanen kurz beschrieben. Keine dieser Darreichungsformen steht jedoch bisher als zugelassenes Arzneimittel zur Verfügung.

Wasserlösliche Vorstufen (Pro-Drugs)

Es wird versucht, durch chemische Veränderungen im Molekül die Taxane wasserlöslich zu machen. Dies ist schwierig und äußerst aufwendig. Zudem können die Eigenschaften der Taxane in ungünstiger Weise verändert werden. Da es sich um neue Stoffe handelt, ist außerdem eine vollständige Neuentwicklung des Arzneimittels notwendig.

Co-Lösungsmittel

Paclitaxel löst sich in Lösungsmitteln wie Ethanol, Dimethylsulfoxid oder Polyethylenglykol 400 (PEG 400). Bei der notwendigen Verdünnung zur Infusion fallen die Taxane jedoch sowohl in der Infusionslösung wie im Blut wieder aus und verlieren zudem an Wirksamkeit (J. M. Meerum Terwogt et al.: Canc. Treatment Rev. 23, 87 - 95 (1997), sowie J. D. Adam et al.: Monogr. Natl. Cancer Inst. 15, 141 - 147 (1993)).

Komplexe mit Cyclodextrinen

Durch Komplexierung mit Cyclodextrinen kann die Löslichkeit von Taxanen erhöht werden (U. S. Sharma et al.: Am. Chem. Soc. Am. Pharm. Ass. **84**, 1223 - 1230 (1995)). Die Lösungen werden jedoch viskos und enthalten feste Teilchen. Zudem ist die Löslichkeit nicht hoch genug um eine ausreichende Menge an Wirkstoff zu verabreichen.

Liposome und Mizellen

Liposome sind Trägersysteme, die aus einer oder mehreren fettähnlichen Membranen bestehen, welche eine wässrige Phase einschließen. Diese Trägersysteme können fettlösliche Substanzen in die Membranen aufnehmen und ermöglichen so eine intravenöse Anwendung. Mit Taxanen, insbesondere Paclitaxel, wurden zahlreiche liposomale Darreichungsformen entwickelt

(vgl. dazu: J. Meerum Terwogt et al. : Cancer Treatment Review 23, 83 - 87 (1997)).

Liposomen sind jedoch äußerst wärme- und hitzeempfindlich. Sie können daher nicht hitzesterilisiert werden, wie dies für Infusionslösungen gefordert wird. Sie sind auch bei der Lagerung instabil. In den notwendigen größeren Mengen sind sie nur mit großem Aufwand steril herzustellen. Keine der zahlreichen entwickelten liposomalen Formen wurde daher bisher zur Produktionsreife entwickelt.

Mizellen, z. B. aus Gallensalzen und Phospholipiden wurden mit Paclitaxel beladen und dann daraus Liposome hergestellt. Solche Mizellen sind instabil, die Sterilisierung ist schwierig und eine Herstellung in größerem Maßstab sehr kompliziert.

Fettemulsionen

Im Gegensatz zu Liposomen bestehen Fettemulsionen aus einer Öl-in-Wasser Emulsion, wobei das Öl zur Stabilisierung mit einem oder mehreren Emulgatoren umgeben ist. Die Art der Herstellung sowie das verwendete Öl und die eingesetzten Emulgatoren sind entscheidend für die Qualität von Fettemulsionen, da zahlreiche Emulgatoren, insbesondere die häufig verwendeten nicht-ionischen Emulgatoren, toxisch sind und bei Fettemulsionen die Größe der Fettpartikel im allgemeinen unter 5 Mikron, am besten unter 1,5 Mikron liegen soll (P. K. Hansrani et al.: J. Parent. Sci. Technol. 4, 145 – 150 (1983)).

Die Verwendung von Fettemulsionen zur Erhöhung der Löslichkeit und Stabilität von Taxanen erscheint zunächst prinzipiell möglich. In Fettemulsionen wird meist Sojaöl als Fett verwendet. Nach J. M. Meerum Terwogt et al. (Cancer Treatment Review 23, 87 - 95 (1997)), sowie J. D. Adams et al. (Monogr. Natl. Cancer Inst. 15, 141 - 147 (1993)) ist die Verwendung von Sojaöl nicht möglich, da sich Taxane in Sojaöl nicht ausreichend lösen. So wird die Löslichkeit von Paclitaxel in Sojaöl mit nur 0,3 mg/ml angegeben.

Es wird daher festgestellt, daß bei Taxanen die Verwendung einfacher Öl in Wasser Emulsionen wie z.B. die handelsüblichen Emulsionen mit Sojaöl, Intralipid, nicht möglich ist. Sojaöl ist ein Triglycerid, das Fettsäuren mit 16 - 18 Kohlenstoffatomen enthält, wie Palmitinsäure, Linolensäure, Linolsäure und Ölsäure.

Daher wurde versucht, Fettemulsionen mit Taxanen durch Verwendung besonderer Trägerstoffe und Emulgatoren herzustellen.

In der WO 96/02247 ist eine Taxane enthaltende Öl-in-Wasser-Emulsion beschrieben, die zumindest ein Taxan enthält, ein Öl, Wasser und ein oberflächenaktives Mittel. Bei der Herstellung müssen Co-Lösungsmittel wie Alkohole eingesetzt werden, die anschließend in einem aufwendigen Prozeß wieder entfernt werden müssen. Bereits geringste Restmengen im Endprodukt würden eine intravenöse Applikation verhindern. Auch Salze freier Fettsäuren werden nicht zugegeben. Die erhaltene Emulsion ist nicht hitzesterilisierbar; konsequenterweise ist eine derartige Hitzesterilisation auch nicht beschrieben.

B. D. Tarr et al. (Pharmaceutical Res. 4, 162 - 165 (1987)) beschreiben eine Emulsion, die neben Wasser 1 % Paclitaxel, 50 % Triacetin, 2,0 % Ölsäureethylester, 1,5 % Pluronic F 68 und 1,5 % Sojalecithin enthält. Obwohl die Emulsion nicht hitzesterilisiert wurde, stieg bei der Lagerung die durchschnittliche Partikelgröße von anfangs 1 Mikron schon nach 2 Monaten auf 4 Mikron an und nach 6 Monaten waren 2 Phasen zu beobachten, das heißt es war keine Emulsion mehr

vorhanden. Die Emulsion selbst erwies sich als toxisch und die Formulierung zeigte keine Antitumor-Aktivität mehr. Der Bestandteil Pluronic F 68 ist zudem ein synthetischer nichtionischer Emulgator mit toxischen Wirkungen.

B. Lundberg (J. Pharm. Pharmacol. 49, 16 - 21 (1997)) beschreibt die Herstellung einer Fettemulsion als Träger für Arzneimittel unter anderem für Paclitaxel. Dabei wurde Triolein (Glyceroltrioleat), das Triglycerid der Ölsäure, als Träger verwendet, als Emulgatoren wurden Dipalmitoyl-Phosphatidylcholin in Kombination mit dem nicht-ionischen Emulgator Polysorbat 80 eingesetzt. Zusätzlich mußte zur Erhöhung der Löslichkeit und zur Stabilisierung noch Polyethylenglykol verwendet werden. Die Emulsion kann nicht hitzesterilisiert werden, sondern muß durch aufwendige Dialyseverfahren gereinigt werden. Die Emulsion mußte in lypholysiertem Zustand gelagert werden. Sie ist erst nach dem Verdünnen mit Infusionslösungen wie Kochsalz- oder Glukoselösung einsetzbar. Die Emulsion enthält unphysiologische, toxische Emulgatoren wie Polysorbat 80 und unphysiologische Substanzen wie Polyethylenglykol. Dipalmityol-Phosphatidylcholin ist extrem teuer. Die Partikelgröße ist zudem mit 20 - 40 Mikron zu groß. Die Herstellung ist kompliziert und extrem aufwendig. B. Lundberg stellt außerdem fest, daß sowohl die Verwendung von Triacetin und Tributyrin eine instabile Emulsion ergibt, während Tricaproin und Tricaprylin vergleichbar mit Triolein in der schlechten Löslichkeit von Paclitaxel und in der Emulsionsbildung sind. Es wird festgestellt, daß die Löslichkeit von Paclitaxel in Triolein und in Sojaöl mit ca. 0,3 mg/ml zu gering ist, um Sojaöl oder die handelsübliche Fettemulsion Intralipid als Träger für Paclitaxel zu verwenden.

Die Formulierung und Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen von Taxanen zur intravenösen Infusion ist daher ein schwerwiegendes Problem (B. Lundberg, J. Pharm. Pharmacol. 49, 16 - 21 (1997)). Stabile und sterile Darreichungsformen, die zudem auch noch im technischen Maßstab hergestellt werden können und die keine unphysiologischen, nebenwirkungsreichen Lösungsmittel,

Lösungsvermittler und Emulgatoren beinhalten, stehen bisher nicht zur Verfügung. Zudem gibt es keine Darreichungsformen, die ohne vorheriges Verdünnen mit Infusionslösungen infundiert werden können.

Obwohl die beschriebenen Probleme seit mehr als zehn Jahren bekannt sind und daher seit langem daran gearbeitet wird, ist es bisher trotz aller Anstrengungen nicht gelungen, eine geeignete Infusionslösung zur intravenösen Anwendung für Taxane zu entwickeln. Insbesondere konnte keine Taxane enthaltende Fettemulsion zur Verfügung gestellt werden.

Zusammenfassung der Erfindung

Ziel der vorliegenden Erfindung ist daher eine Taxane enthaltende pharmazeutische Darreichungsform in Form einer Öl in Wasser Emulsion, die auch zur intravenösen Anwendung geeignet ist.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Darreichungsform enthält im wesentlichen keine synthetischen nicht-ionischen Emulatoren, beispielsweise Polyoxyethylen-Rizinusöl, hydriertes Polyoxyethylen-Rizinusöl; Polysorbate, Pluronic usw. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung sind auch keine halbsynthetischen oder natürlicherweise vorkommende nicht-ionische Emulgatoren, die toxische Nebenwirkungen besitzen, enthalten. Die Zusammensetzung der Erfindung ist im Anspruch 1 näher gekennzeichnet.

Die Nachteile der bisher verwendeten Darreichungsformen werden z.B. vermieden durch die Herstellung einer Taxane enthaltenden Infusionslösung, in welcher die Taxane in einer therapeutisch wirksamen Menge enthalten sind, in einer Emulsion, bestehend aus Triglyceriden von Fettsäuren mit 2-22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt 4-20 Kohlenstoffatomen, 3-sn-Phosphatidylcholin, Alkalisalzen freier Fettsäuren und Wasser.

Neben der Abwesenheit von synthetischen nicht-ionischen Emulgatoren hat die erfindungsgemäße Darreichungsform weitere

Vorteile, da sie einfach zu handhaben ist, in größeren Mengen industriell in steriler Form herzustellen ist und eine ausgezeichnete Stabilität besitzt.

Der Ausdruck "im wesentlichen keine synthetischen nichtionischen Emulgatoren" bedeutet, daß geringe Mengen an
synthetischen nicht-ionischen Emulgatoren vorliegen können,
sofern diese keine nachteiligen Wirkungen auf den Patienten
entfalten. Synthetische nicht-ionische Emulgatoren können in
einer Menge von < 5g/l, bevorzugt < 1g/l, bevorzugter < 0,5
g/l und weiterhin bevorzugt < 0,3 g/l vorliegen. Insbesondere
bevorzugt enthält die Formulierung keine synthetischen nichtionischen Emulgatoren, weiterhin bevorzugt enthält die
Formulierung keine anderen nicht-ionischen Emulgatoren mit
schädlichen Nebenwirkungen.

Das Phosphatidylethanolamin kann in der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung in einer Menge von 0,01 bis 3 Gew.-%, bevorzugt 0,01 - 2 Gew.-%, bevorzugter 0,05 - 2 Gew.-%, vorliegen.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

Bei der erfindungsgemäßen Darreichungsform handelt es sich um eine Fettemulsion insbesondere zur intravenösen Anwendung, die Taxane, Triglyceride mit 2 - 22 Kohlenstoffatomen, 3 - sn - Phosphatidylcholin, Alkalisalze freier Fettsäuren und Wasser enthält.

Zusätzlich kann die Darreichungsform noch Phosphatidylethanolamin sowie Substanzen enthalten, welche die Emulsion blutisoton machen wie z.B. Glycerin und/oder Sorbit und/oder Xylit.

Fettemulsionen zur parenteralen Anwendung und Verfahren zu ihrer Herstellung sind bekannt. (Vgl. dazu: DE-PS 1 1249 454, GP-PS 2 406 621, DE-OS 3 721 137, EP 071 995, DE-OS 3 032 300, US 5 589 508)

Diese Fettemulsionen sind Öl in Wasser Emulsionen, in denen die Partikelgröße der Tröpfchen weniger als 5 Mikron beträgt, so daß die Emulsionen ohne das Risiko des Auftretens von Embolien infundiert werden können.

Auch Fettemulsionen, die Arzneimittel z. B. Cyclosporine, enthalten, sind bekannt. (Vgl. dazu: US 5 527 537, US 5 622 714)

Die verwendeten Öle sind beispielsweise Sojaöl, Distelöl, Olivenöl, Fischöle und mittelkettige Triglyceride.
Vorzugsweise werden MCT-Öle allein oder in Kombination mit Sojaöl oder Olivenöl verwendet. Als Emulgatoren werden Phosphatidylcholine aus Eilecithin bzw. Sojalecithin verwendet. Die Öle werden mit den Emulgatoren emulgiert, bis eine Partikelgröße der Fettpartikel von kleiner als 5 Mikron erhalten wird.

Erfindungsgemäß sind Alkohole, wie Methanol, Ethanol und Isopropanol, nicht in der pharmazeutischen Zubereitung enthalten bzw. werden nicht bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitung eingesetzt.

Wie vorher beschrieben, wird seit mehr als zehn Jahren vergeblich versucht, Taxane enthaltende Fettemulsionen herzustellen, bzw. Taxane enthaltende Fettemulsionen ohne die Verwendung nicht-ionischer Emulgatoren herzustellen.

Außerdem wurde bisher festgestellt, daß sich Taxane, z. B. Paclitaxel in Triglyceriden von Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 6 - 18 Kohlenstoffatomen nicht ausreichend lösen, um therapeutisch wirksame Konzentrationen zu erreichen. In Tributyrin (Fettsäure mit 4 Kohlenstoffatomen) ergab sich zwar eine etwas höhere Löslichkeit, aber trotz Verwendung nicht-ionischer Emulgatoren konnte keine stabile Emulsion hergestellt werden. (B. D. Tarr et al.: Pharmaceutical Research 4, 162 - 165 (1987); B. Lundberg: J. Pharm. Sci. 83, 72 - 75 (1994); Int. Journ. Pharmaceutics 134, 119 - 127 (1996); J. Pharm. Pharmacol. 49, 16 - 21 (1997))

Überraschenderweise wurde entsprechend der Erfindung gefunden, daß es sehr wohl möglich ist, eine bevorzugt intravenös anwendbare Darreichungsform mit Taxanen herzustellen, die keine nicht-ionischen Emulgatoren enthält, in Form einer Taxane enthaltenden Emulsion, die aus Triglyceriden von Fettsäuren mit 2 - 22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt mit 4 - 20 Kohlenstoffatomen, 3 - sn - Phosphatidylcholin, Alkalisalzen freier Fettsäuren und Wasser besteht.

Es ist dabei entscheidend, daß die Taxane zuerst in dem verwendeten Triglycerid und/oder Triglyceridgemisch gelöst werden und anschließend unter Verwendung von 3 - sn - Phosphatidylcholin emulgiert werden zu einer Emulsion, deren Fettpartikel überwiegend kleiner als 5 Mikron sind. Als Taxane werden bevorzugt Paclitaxel und Docetaxel verwendet. Weiterhin sind erfindungsgemäß die folgenden Taxane verwendbar:

Spicatin; Taxan-2,13-dione, 5.beta., 9.beta., 10.beta.trihydroxy-, cyclo-9,10-acetal mit Aceton, Acetat; Taxan-2,13-dione, 5.beta., 9.beta., 10.beta.-trihydroxy-, cyclo 9, 10-acetal mit Aceton; Taxan-2.beta., 5.beta., 9.beta., 10.beta.-tetrol, cyclo-9,10-acetal mit Aceton; Cephalomannin-7-xylosid; 7-epi-10-Deacetylcephalomannin; 10-Deacetylcephalomannin; Cephalomannin; Taxol B; 13-(2',3'-Dihydroxy-3'-phenylpropionyl)baccatin III; Yunnanxol; 7-(4-Azidobenzoyl)baccatin III; N-Debenzoyltaxol A; O-Acetylbaccatin IV; 7-(Triethylsilyl)baccatin III; 7,10-Di-O-[(2,2,2-Trichlorethoxy)carbonyl]baccatin III; Baccatin III-13-0-acetat; Baccatindiacetat; Baccatin; Baccatin VII; Baccatin VI; Baccatin IV; 7-epi-Baccatin III; Baccatin V; Baccatin I; Baccatin III; Baccatin A; 10-Deacetyl-7-epitaxol; Epitaxol; 10-Deacetyltaxol C; 7-Xylosyl-10-deacetyltaxol; 10-Deacetylaxol-7-xylosid; 7-epi-10-Deacetyltaxol; 10-Deacetyltaxol; und 10-Deacetyltaxol B.

Die Triglyceride enthalten Fettsäuren mit 2-22 Kohlenstoffatomen.

So können beispielsweise die Triglyceride folgender Fettsäuren eingesetzt werden:

Bezeichnung	Fettsäure	-	Anzahl	der
Kohlenstoffatome				
Triacetin		2		
Tributyrin			4	
Tricaproin			6	
Tricaprylin			8	
Tricaprin		10		
Trilaurin		12		
Trimyristin			14	
Tripalmitin			16	
Tristearin			18	
Triolein		18		
Trilinolein			18	
Trieicosapentain			20	
Tridocosahexain			22	

Es können auch Gemische dieser Triglyceride verwendet werden und/oder natürlich vorkommende und/oder raffinierte und/oder umgeesterte Triglyceride natürlicher Öle wie mittelkettige Triglyceride (MCT-Öle), Sojaöl, Distelöl, Oliven, Fischöl etc. und/oder Gemische dieser Triglyceride.

Auch Triglyceride hydrierter Fettsäuren sind verwendbar. Bevorzugt sind Triglyceride und/oder Triglyceridgemische von Fettsäuren mit 4 - 20 Kohlenstoffatomen.

Es sei darauf hingewiesen, daß Tributyrin anscheinend selbst antikanzerogen wirkt, und die Wirkung von Taxanen synergistisch erhöhen kann.

Als Grundstoffe für 3 - sn - Phosphatidylcholin kommen bevorzugt Eilecithine und Sojalecithine in Frage.

Lecithine mit einem Gehalt an 3 - sn - Phosphatidylcholin von mehr als 60 % sind bevorzugt. Besonders bevorzugt ist Eilecithin mit einem Gehalt an Phosphatidylcholin von 60 bis 90 %.

Das 3 - sn - Phosphatidylcholin kann auch teilweise oder vollständig hydriert sein. Die verwendeten Lecithine können neben 3 - sn - Phosphatidylcholin auch Phosphatidylethanolamin enthalten.

Während z.B. in der Zubereitung der WO 96/2247 ca. 20 mg Cholesterin / ml Triglycerid enthalten sind, bevorzugt die erfindungsgemäße Zubereitung Mengen weit unter 10 mg, bevorzugter unter 5 mg, z.B. ca. 1 mg Cholesterin / ml Triglycerid.

Weiterhin ist ein Alkalisalz einer Fettsäure mit 4 - 24 Kohlenstoffatomen enthalten, um den pH-Wert der Emulsion auf 5- 9 einzustellen und die Emulgierung und Homogenisierung zu erleichtern. Bevorzugt sind dabei Fettsäuren mit 12 - 22 Kohlenstoffatomen, insbesondere sind bevorzugt Fettsäuren mit 16 - 20 Kohlenstoffatomen. Das Alkalisalz einer Fettsäure kann auch in situ durch Zugabe eines Alkalihydroxids in ein Gemisch, das eine Fettsäure enthält, hergestellt werden. Die Natrium- oder Kaliumsalze von Palmitinsäure, Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure sind besonders bevorzugt. Die Konzentration der Triglyceride in der erfindungsgemäßen Darreichungsform beträgt 1 - 60 %. Bevorzugt sind Konzentrationen von 3 - 40 %.

Die Konzentrationen des verwendeten Emulgators in Form von Eilecithin und/oder Sojalecithin betragen 0,2 - 4 %, bevorzugt sind Konzentrationen von 0,4 - 2,5 %, wobei die Konzentration des Emulgators von der Konzentration der Triglyceride abhängt. Falls eingesetzt, betragen die Konzentrationen der Alkalisalze der Fettsäuren im allgemeinen 0,01 - 0,2 %, bevorzugt 0,02 - 0,1 Gew%.

Die verwendeten Taxane sollen in therapeutisch wirksamen Konzentrationen vorhanden sein. Im allgemeinen betragen diese Konzentrationen 0,01 - 0,3 % (0,1 - 3 mg/ml). Um eine blutisotone Emulsion zu erhalten, können bekannte isotonisierende Substanzen wie z. B. Glycerin, Glukose, Fruktose, Sorbit, Xylit in den entsprechenden Konzentrationen enthalten sein, wobei Glycerin bevorzugt ist.

Zusätzlich kann die pharmazeutische Darreichungsform Vitamin E enthalten in der Form von Tocopherol oder pharmazeutisch verträglichen Tocopherolestern, um als stabilisierendes Antioxidans zu wirken. Die verwendeten Konzentrationen betragen cirka 0,15 bis 1,5 Gew%, abhängig von Art und Gehalt der verwendeten Triglyceride und Emulgatoren.

Die Partikelgröße der Fettpartikel in der Öl-in-Wasser Emulsion ist möglichst kleiner als 5 Mikron. Mindestens 97 % der Partikel sollen kleiner als 5 Mikron sein. Im allgemeinen beträgt die Partikelgröße im Durchschnitt 0,1 - 1 Mikron, bevorzugt zwischen 0,2 - 0,6 Mikron.

Da nicht alle Fettpartikel gleich groß sind, ergeben sich typische Verteilungen der Partikel, z. B.:

Partikelgröße	Anzahl der Partikel
< 0,2 Mikron	34 %
0,2 - 0,5 Mikron	43 %
0,5 - 0,9 Mikron	14 %
0,9 - 1,2 Mikron	6 %
1,2 - 1,9 Mikron	2 %
1,9 - 2,2 Mikron	weniger als 1 %
2,2 - 2,5 Mikron	weniger als 1 %
2,5 - 3,2 Mikron	weniger als 1 %
> 3,2 Mikron	weniger als 1 %

Mögliche geeignete erfindungsgemäße pharmazeutische Darreichungsformen als Emulsionen haben beispielsweise folgende Zusammensetzung:

	Tributyrin	10 g	/ 1	L00 1	nl
	Glycerin (zur Isotonisierung)		2,5	g	/
100 ml					
	Eilecithin	1,2	g	/	100
ml					
	Natriumoleat	40 m	.g	/	100
ml					
	Paclitaxel	100	mg /	100	ml
	Wasser (für Injektionszwecke)	ad 1	00 ml	L	
oder:					
1	Mittelkettige Triglyceride		10 g	1 /	100
ml					
	bestehend vorwiegend aus Capryl- und Caprinsäure	-			
	Glycerin 2,5	g	/	100	ml
	Eilecithin, enthaltend ca. 80 %		1,5	g	/
100 ml					
	3 - sn - Phosphatidylcholin				

Kaliumoleat 50 mg / 100

ml

Paclitaxel 100 mg / 100 ml

Wasser (für Injektionszwecke) ad 100 ml

oder:	
-------	--

_	100 ml
	100 ml
5	g / 100
5 g /	100 ml
0,8 g	/ 100
50 mg	/ 100
) mg /	100 ml
ad 100	ml
10) g / 100
	,
10 g	/ 100
5	, – – –
5 a /	100 ml
-	/ 100
. ,	
50 mg	/ 100
,	
100 mg	/ 100 ml
_	
4 q /	100 ml
_	g / 100
	-
5 g /	100 ml
-	
.5 g /	100 ml
-	/ 100 ml
~ · ···· · · ·	
	5 g / 0,8 g 50 mg / ad 100 10 g 5 g / 1,2 g 50 mg 100 mg ad 100 4 g / 5 5 g / 1,2 g 5 g / 1,2 g

Wasser (für Injektionszwecke) ad 100 ml oder: Tributyrin 2 g / 100 ml 10 g / 100 ml Mittelkettige Triglyceride Fischöl 5 g / 100 ml Eilecithin 1,5 g / 100 ml 2,5 g / 100 ml Glycerin Kaliumoleat 0,6 g / 100 ml 80 mg / 100 ml Paclitaxel Wasser für Injektionszwecke ad 100 ml

<u>Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen</u> pharmazeutischen Zubereitung

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitungen wird im allgemeinen wie im folgenden beschrieben verfahren.

Lösen des (r) Taxans (e) im Triglycerid

Es wurde beschrieben (B. D. Tarr et al.: Pharmaceutical Research 4, 162 - 162 (1987); J. D. Adams et al.: Monogr. Natl. Cancer Inst. 15, 141 - 147 (1993); B. Lundberg: J. Pharm. Pharmacol. 49, 16 - 21 (1997)), daß sich Taxane nicht ausreichend in Triglyceriden lösen, um damit Emulsionen mit therapeutisch wirksamen Konzentrationen herzustellen. Als Löslichkeit in Triglyceriden mit 6 - 18 Kohlenstoffatomen werden beispielsweise für Paclitaxel 0,3 mg/ml angegeben.

Desweiteren wurde beschrieben, daß mit Tributyrin keine stabilen Emulsionen mit kleiner Partikelgröße herzustellen sind.

Überraschenderweise wurde nun erfindungsgemäß gefunden, daß es möglich ist, in Triglyceriden, die Fettsäuren mit 2 - 22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt 4 - 20 Kohlenstoffatome enthalten, eine ausreichende Menge an Taxanen zu lösen, um therapeutisch wirksame Konzentrationen dieser Taxane zu erhalten und pharmazeutisch verträgliche und wirksame Emulsionen herzustellen.

Um Taxane in den notwendigen Konzentrationen zu lösen, werden die Taxane in die gewünschten Triglyceride, bzw. Mischungen aus verschiedenen Triglyceriden gegeben und das Gemisch, gegebenenfalls unter Rühren, erhitzt, bis sich das Taxan gelöst hat. Alternativ wird das Taxan, gegebenenfalls unter Rühren, in das bereits erwärmte oder erhitzte Triglycerid bzw. Gemisch aus Triglyceriden gegeben. Dabei sollte das Triglycerid nicht über den Schmelzpunkt des Taxans, der beispielsweise bei Paclitaxel bei ca. 210° C liegt, erhitzt werden.

Je niedriger die Anzahl der Kohlenstoffatome der Fettsäuren im jeweils verwendeten Triglycerid ist, desto leichter löst sich das Taxan beim Erhitzen. So läßt sich Paclitaxel schon bei 60 - 90° C in Tributyrin lösen, während es zum Lösen in Tricaprylin und/oder Tricaprin vorteilhaft ist, auf ca. 110 - 130° C zu erhitzen.

Auch der Siedepunkt des oder der verwendeten Triglyceride, der beispielsweise für Tributyrin bei ca. 130°C liegt, sollte beim Lösen des(r) Taxans(e) nicht überschritten werden. Im allgemeinen werden die Wirkstoffe unter Rühren bei Temperaturen zwischen 60° und 160°C gelöst, wobei die benötigte Temperatur abhängig ist von der Anzahl der Kohlenstoffatome der in den Triglyceriden enthaltenen Fettsäuren.

Je höher die Anzahl der Kohlenstoffatome, desto höher die zu Lösen verwendete Temperatur. In Tributyrin läßt sich beispielsweise Paclitaxel bei ca. 60 - 100° C gut lösen.

Der Lösungsvorgang erfolgt am besten unter Ausschluß von Sauerstoff, z.B. in einer Stickstoffatmosphäre, um Zersetzungen infolge von Oxidationsvorgängen zu vermeiden. Es ist vorteilhaft, während des gesamten Herstellungsvorgangs auf Abwesenheit von Sauerstoff zu achten. Es ist auch möglich, das verwendete Taxan zuerst in einem Triglycerid von Fettsäuren mit wenig Kohlenstoffatomen, z.B. Tributyrin bei relativ niedrigen Temperaturen, beispielsweise 70 - 100° C zu lösen und dann weitere Triglyceride zuzugeben.

Durch das Lösen in der Hitze lassen sich problemlos therapeutisch relevante Konzentrationen der Taxane in den Triglyceriden erreichen.

Konzentration	Lösungsmitte		
Paclitaxel / g			
mind. 40 mg / g	Tributyrin		
mind. 20 mg / g	Tricaproin		
mind. 15 mg / g	Tricaprylin		

mind. 15 mg / g

Mittelkettige

 $(C_6-C_{12}, \text{ vorwiegend } C_8-C_{10})$

Triglyceride

mind. 4 mg / g

Sojaöl MCT-Öl / Sojaöl (im

mind. 8 mg / g

Verhältnis 1:1)

Die gelösten Mengen sind ausreichend, um die gewünschten therapeutisch wirksamen Konzentrationen in der erfindungsgemäßen Emulsion zu erreichen.

Nach dem Abkühlen der Triglyceride bzw. Öle mit den darin gelösten Taxanen zeigt sich überraschenderweise, daß die Taxane auch bei Zimmertemperatur problemlos in Lösung bleiben und nicht ausfallen, und zwar über lange Zeiträume, bisher über 19 Monate. Die bisherigen Feststellungen, daß sich Taxane in Triglyceriden und/oder Ölen nicht ausreichend lösen, um therapeutische Konzentrationen zu erreichen, ist daher nicht zutreffend.

Die auf 20 - 60° C abgekühlten Taxane enthaltenden Triglyceride werden filtriert, um evtl. vorhandene Partikel zu entfernen.

Herstellung der Emulsion

Aus einer Mischung, bestehend aus 3-sn- Phosphatidylcholin (z. B. aus Eilecithin), Natriumoleat, Glycerin und Wasser wird durch Rühren mit einem Ultra-Turrax eine Rohemulsionen hergestellt bei einer Temperatur von ca. $40-70^{\circ}$ C. In diese Rohemulsion wird nun die Taxane enthaltende Triglyceridlösung und Wasser gegeben, der pH-Wert gegebenenfalls durch Zugabe von Alkalisalzen von Fettsäuren auf 5-9 eingestellt, bevorzugt auf 6-8.

Das Gemisch, welches nun Taxane, Triglyceride, 3 - sn - Phosphatidylcholin, Wasser, ein Isotonisierungsmittel wie z. B. Glycerin und gegebenenfalls Alkalisalze von Fettsäuren enthält, wird durch Rühren mit einem Ultra-Turrax homogenisiert, wodurch eine Rohemulsion erhalten wird. Die Mischung wird durch Zugabe von Wasser so eingestellt, daß der Triglyceridgehalt 1 - 60 Gew% beträgt.

Die Rohemulsion wird nun in einem Hochdruckhomogenisator mit drei Kolben bei Drücken zwischen 100 - 700 bar, bevorzugt zwischen 300 - 600 bar, gegebenenfalls mehrfach, homogenisiert, bis eine Emulsion vorliegt, in der die Partikelgröße von mindestens 97 % aller Fettpartikel unter 5 Mikron, bevorzugt unter 1,5 Mikron liegt.

Danach wird die Emulsion mit Wasser auf die gewünschte Konzentration verdünnt und in Ampullen oder Flaschen abgefüllt und hitzesterilisiert. Bevorzugt ist dabei die Sterilisation in einem sog. Rotationsautoklaven, in dem die Behältnisse während der Sterilisation über Kopf rotiert werden. Dies führt zu einem besseren Hitzetransfer in den Behältnissen. Dadurch wird die Aufheizphase und Abkühlphase verkürzt und das Risiko einer Schädigung des Inhalts der Behältnisse verringert. Es ist vorteilhaft, den gesamten Herstellungsvorgang unter Ausschluß von Sauerstoff durchzuführen.

Die folgenden Beispiele beschreiben die erfindungsgemäße pharmazeutische Darreichungsform und das Verfahren zu ihrer Herstellung im einzelnen.

Die Erfindung ist jedoch nicht darauf beschränkt.

Beispiel 1

Herstellung einer Emulsion mit Paclitaxel in MCT-Öl und Sojaöl

1000 mg Paclitaxel werden unter Rühren in 200 g eines Triglycerid-Gemisches gegeben, das aus MCT-Öl (mittelkettige Triglyceride) mit vorwiegend Fettsäuren mit 8 und 10 Kohlenstoffatomen und Sojaöl im Verhältnis 1:1 besteht. Das Gemisch wird unter Rühren und Begasen mit Stickstoff auf ca. 110 - 135° C erhitzt, bis eine weitgehend klare Lösung erhalten wird.

Alternativ kann das Paclitaxel (1000 mg) zunächst in 100 g MCT-Öl bei ca. 110 - 135° C gelöst werden und erst danach Sojaöl, erhitzt auf ca. 120° C, zugegeben werden. Man läßt auf ca. 40 - 80° C abkühlen und filtriert durch ein fettresistentes Entkeimungsfilter mit einer Porengröße von ca. 50 Mikron.

In ein weiteres Gefäß werden nun 25 g Glycerin gegeben sowie 200 ml Wasser und mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt weniger als 0,5 mg/l beträgt. Nun werden 12 g Eilecithin (Jodzahl 60-70) mit einem Gehalt an 3 - sn - Phosphatidylcholin von ca. 80 % und ca. 12 % Phosphatidylethanolamin zugegeben und 0,4 g Natriumoleat. Durch starkes Rühren mit einem Ultra-Turrax wird bei einer Temperatur von ca. 40 - 60° C eine Rohemulsion hergestellt. Nun wird die das Paclitaxel enthaltende Triglycerid-Lösung zugegeben und weitere 10 Minuten mit einem Ultra-Turrax stark gerührt. Der pH-Wert wird überprüft und sollte zwischen 5 und 9 liegen, bevorzugt zwischen 6 - 8, insbesondere bevorzugt zwischen 6,5 und 7,5.

Die erhaltene Rohemulsion wird durch ein fettresistentes Edelstahlfilter (Porengröße zwischen 5 - 50 Mikron) filtriert und anschließend mit einem 2-Stufen-Hochdruck-Homogenisator mit drei Kolben homogenisiert bei Drücken zwischen 100 - 600

bar. Der Vorgang der Homogenisierung wird so oft wiederholt, bis die gewünschte Partikelgröße erreicht ist. Weniger als 1 % der Partikel sollten größer als 4 Mikron sein. Im Mittel beträgt der Durchmesser der Partikel 0,2 - 0,6 Mikron.

Um eine gut anwendbare Partikelgröße zu erreichen, ist es im allgemeinen nötig, den Vorgang der Homogenisierung ca. 3 - 6 mal zu wiederholen. Nach jedem Homogenisierungsvorgang sollte die Emulsion auf 30 - 60° C abgekühlt werden. Die Emulsion wird nun in 560 ml sauerstofffreies Wasser für Injektionszwecke gegeben. Es wird nochmals mit Stickstoff begast, bis der Sauerstoffgehalt unter 0,5 mg/l liegt.

Vor der Abfüllung in 250 ml Glasflaschen wird durch eine Edelstahlfilter mit einer mittleren Porengröße von 5 Mikron filtriert. Der Filtrationsdruck sollte dabei 0,2 bar nicht übersteigen, um ein Brechen der Emulsion zu verhindern. Die Partikelgröße und die Partikelverteilung können beispielsweise mittels Mikroskop oder Coulter Counter bestimmt werden.

Partikelgr	Zahl	der Te	ei]	Lchen	
< 0,2	Mikron		34 %		
0,2 - 0,51	Mikron		43 %		
0,5 - 0,9	Mikron		14 %		
0,9 - 1,2	Mikron		6 %		
1,2 - 1,9	Mikron		2 %		
1,9 - 2,2 1	Mikron		unter	1	ક
2,2 - 2,5 1	Mikron		unter	1	용
2,5 - 3,21	Mikron		unter	1	용
> 3,2	Mikron		unter	1	용

Die Emulsion wird in 250 ml-Glasflaschen abgefüllt. Die Flaschen werden vor der Abfüllung mit Stickstoff begast. Dabei ist es vorteilhaft, den verwendeten Stickstoff auf minus 20 - 30° C abzukühlen, damit der Stickstoff leichter auf den Boden der Flasche sinkt. Auch während des Abfüllvorgangs sollten die Flaschen weiterhin mit Stickstoff begast werden.

Die erhaltene Emulsion wird hitzesterilisiert bei 121° C für 20 Minuten. Vorteilhaft wird dabei ein sogenannter Rotationsautoklav verwendet, in dem die Flaschen während der Sterilisation über Kopf rotieren. Dadurch wird die zum Abfüllen und Abkühlen notwendige Zeit vermindert und vermieden, daß sich die Partikelgröße ändert.

Die Partikelverteilung nach der Sterilisation ist wie folgt:

Partikelgröße	Zahl der Teilchen
< 0,2 Mikron	25 %
0,2 - 0,5 Mikron	46 %
0,5 - 0,9 Mikron	19 %
0,9 - 1,2 Mikron	6 %
1,2 - 1,5 Mikron	2
1,5 - 1,9 Mikron	unter 1 %
1,9 - 2,2 Mikron	unter 1 %
2,2 - 3,2 Mikron	unter 1 %
> 3,2 Mikron	0 %

Die Sterilisation führt daher zu keiner wesentlichen Veränderung der Partikelgröße und Partikelverteilung. Die Emulsion ist stabil. Nach einjähriger Lagerung bei Raumtemperatur zeigt sich keine wesentliche Änderung der Partikelgröße und Partikelverteilung.

Man erhält eine stabile Emulsion mit folgender Zusammensetzung pro 100 ml:

Paclitaxel:	100 mg
Sojaöl plus MCT-Öl:	20 g
Eilecithin:	1,2 g
Glycerin:	2,5 g
Natriumoleat:	40 mg
sowie Wasser	ad 100 ml

250 bis 500 ml der Emulsion können nun langsam über 3 - 10 Studen infundiert werden, wodurch eine therapeutisch wirksame Menge an Paclitaxel zugeführt wird.

Beispiel 2

Das Verfahren des Beispiels 1 wird wiederholt, wobei statt Paclitaxel jetzt 800 mg Docetaxel eingesetzt werden. Man erhält eine pharmazeutische Darreichungsform mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml:

Docetaxel	80 mg
Sojaöl	10 g
MCT-Öl	10 g
Eilecithin	1,2 g
Glycerin	2,5 g
Natriumoleat	40 mg
Wasser	ad 100 ml

Beispiel 3

60 g Tributyrin werden unter Rühren auf ca. 70 - 90° C erwärmt unter Stickstoff. Es werden 1000 mg Paclitaxel zugegeben und weiter bei 70 - 90° C gerührt bis eine klare Lösung erhalten wird. Man läßt auf ca. 30 - 60° C abkühlen. Die weitere Herstellung erfolgt analog dem Beispiel 1.

Es wird eine erfindungsgemäße Emulsion mit folgender Zusammensetzung pro 100 ml erhalten:

Paclitaxel	100 mg
Tributyrin	6,0 g
Eilecithin	1,2 g
Glycerin	2,5 g
Natriumoleat	40 mg
Wasser für Injektionszwe	cke ad 100 ml

Beispiel 4

30 g Tributyrin und 70 g MCT-Öl (mit vorwiegend Fettsäuren mit 8 und 10 Kohlenstoffatomen, nämlich Capryl- und Caprinsäure) werden auf ca. 110 - 130° C unter Rühren erwärmt

und 800 mg Paclitaxel unter Rühren zugegeben, bis eine klare Lösung entsteht. Man läßt auf 30 - 60° C abkühlen und verfährt in der weiteren Herstellung analog Beispiel 1, wobei jedoch das Eilecithin durch Sojalecithin mit einem Gehalt an 3 - sn - Phosphatidylcholin von ca. 70 - 80 % ersetzt wird. Statt Natriumoleat wird Kaliumoleat eingesetzt.

Man erhält eine erfindungsgemäße Emulsion mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml:

Paclitaxel 80 mg
Tributyrin 3 g
MCT-Öl 7 g
Sojalecithin 1,2 g
Glycerin 2,5 g
Kaliumoleat 40 mg
Wasser für Injektionszwecke ad 100 ml

Beispiel 5

800 mg Paclitaxel werden unter Rühren bei 120 - 140° C in 150 g MCT-Öl gelöst. Das verwendete MCT-Öl enthält 65 % Caprylsäure (C8) und 32 % Caprinsäure als Triglyceride. Daneben sind als Triglyceride noch geringe Mengen an Capronsäure, Laurinsäure und Myristinsäure enthalten. Es werden noch 0,6 g freie Ölsäure zugegeben. Es wird analog Beispiel 4 hergestellt, wobei jedoch statt Kaliumoleat Kaliumhydroxid zur pH-Einstellung verwendet wird. Dadurch entsteht in situ Kaliumoleat wie in Beispiel 4. Eine erfindungsgemäße Emulsion mit folgender Zusammensetzung pro 100 ml wird erhalten.

Paclitaxel 100 mg
MCT-Öl 15 g
Glycerin 2,5 g
Sojalecithin 1,2 g
Kaliumoleat 69 mg
Wasser für Injektionszwecke ad 100 ml

Beispiel 6

500 mg Paclitaxel werden unter Rühren und unter Stickstoffatmosphäre in einem Triglyceridgemisch, bestehend aus 100 g MCT-Öl und 50 g Fischöl mit einem Gehalt an insgesamt 40 % Omega-3-Fettsäuren, insbesondere Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure, bei ca. 130 - 150°C gelöst. Der Sauerstoffgehalt der Triglyceride wurde vorher durch Begasen mit Stickstoff auf unter 0,5 mg/l eingestellt. Zusätzlich wurden 10 mg Vitamin E zugegeben.

Das weitere Herstellungsverfahren erfolgt entsprechend Beispiel 1. Es wird eine erfindungsgemäße Emulsion mit der folgenden Zusammensetzung pro 100 ml erhalten.

> Paclitaxel 50 mg MCT-Öl 10 q Fischöl 5 g Glycerin 2,5 g Eilecithin 1,2 g Natriumoleat 40 mg Vitamin E 10 mg Wasser für Injektionszwecke ad 100 ml

Patentansprüche

1. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung in Form einer Öl-in-Wasser-Emulsion, dadurch gekennzeichnet, daß sie zumindest ein Taxan, zumindest ein Triglycerid von Fettsäuren mit 2 - 22 Kohlenstoffatomen, 3-sn-Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Alkalisalze freier Fettsäuren und Wasser, jedoch im wesentlichen keine synthetischen nicht-ionischen Emulgatoren, enthält.

- 2. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung als pharmazeutisch verträgliche Öl-in-Wasser Emulsion zur intravenösen Infusion vorliegt.
- 3. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Partikelgröße der Fettpartikel überwiegend kleiner als 5 Mikron ist.
- 4. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Partikelgröße der Fettpartikel im Mittel zwischen 0,2 und 1 Mikron beträgt.
- 5. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Taxane Paclitaxel und/oder Docetaxel eingesetzt werden.

6. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane in einer pharmazeutisch wirksamen und verträglichen Konzentration von 0,1 bis 3 mg/ml, bevorzugt von 0,2 bis 1,5 mg/ml vorliegen.

- 7. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Triglyceride aus Fettsäuren mit 2 bis 22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt mit 4 20 Kohlenstoffatomen bestehen.
- 8. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Triglyceride Tributyrin und/oder Tricaproin und/oder Tricaprylin und/oder Tricaprin und/oder mittelkettige Triglyceride mit vorwiegend Caprylsäure und Caprinsäure und/oder Sojaöle und/oder Olivenöle, und/oder Distelöle und/oder Maiskeimöle und/oder Weizenkeimöle und/oder Sonnenblumenöle und/oder Fischöle und/oder Triolein und/oder Trilinolein enthalten sind.
- 9. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Triglyceride in einem Anteil von 1 bis 60 %, bevorzugt 4 40 % des Gesamtgewichtes in der pharmazeutischen Zubereitung vorliegen.
- 10. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das 3 sn Phosphatidylcholin in Form von 3 sn Phosphatidylcholin enthaltenden Substanzen vorliegt und daß

vorzugsweise die 3 - sn - Phosphatidylcholin enthaltende Substanz Eilecithin und/oder Sojalecithin (Sojaphosphatid) ist.

- 11. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das verwendete Eilecithin und/oder Sojalecithin einen Anteil von 60 bis 90 Gew% 3 sn Phosphatidylcholin enthält, wobei Eilecithin besonders bevorzugt ist.
- 12. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das verwendete 3 sn Phosphatidylcholin teilweise oder vollständig hydriert ist.
- 13. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Gehalt an 3 sn Phosphatidylcholin in der pharmazeutischen Zubereitung 0,2 4 Gew%, bevorzugt 0,4 2,5 Gew% beträgt und daß der Gehalt der 3 sn Phosphatidylcholin enthaltenden Substanzen in der pharmazeutischen Zubereitung 0,4 7,0 Gew%, bevorzugt 0,6 4 Gew% beträgt.
- 14. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als pharmazeutisch verträgliche freie Fettsäuren gesättigte und/oder ungesättigte Fettsäuren und/oder Alkalisalze, bevorzugt mit 6 24 Kohlenstoffatomen, enthalten sind, wobei vorzugsweise als pharmazeutisch verträgliche freie Fettsäuren Ölsäure und/oder Palmitinsäure und/oder Palmitoleinsäure und/oder Linolsäure und/oder

Linolensäure und/oder deren Alkalisalze, bevorzugt Kaliumund/oder Natriumsalze verwendet werden.

- 15. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Gehalt an freien Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen 0,01 0,2 Gew%, bevorzugt 0,02 0,1 Gew% beträgt.
- 16. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung zusätzlich Substanzen wie Glycerin und/oder Glukose und/oder Sorbit und/oder Fruktose in einer solchen Menge enthält, um die pharmazeutische Zubereitung blutisoton zu machen.
- 17. Taxane enthaltende pharmazeutische Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die pharmazeutische Zubereitung Phosphatidylethanolamin in einer Menge von 0,01 2,0 Gew,-% enthält.
- 18. Verfahren zur Herstellung der Taxane enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane in Triglyceriden von Fettsäuren mit 2 22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt 4 20 Kohlenstoffatomen, gelöst werden und anschließend mit 3 sn Phosphatidylcholin und/oder Phosphatidylethanolamin und Alkalisalzen freier Fettäuren und Wasser in an sich bekannter Weise emulgiert werden.

19. Verfahren zur Herstellung der Taxane enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane vor der Emulgierung in den Triglyceriden bei Temperaturen von mehr als 60°C, bevorzugt zwischen 70°C und 150°C, gelöst werden.

- 20. Verfahren zur Herstellung der Taxane enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane in Triglyceriden mit Fettsäuren mit 4 bis 6 Kohlenstoffatomen bei Temperaturen zwischen 70 bis 110° C gelöst werden.
- 21. Verfahren zur Herstellung der Taxane enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane in Triglyceriden mit Fettsäuren mit mehr als 8 Kohlenstoffatomen bei Temperaturen von 100° C und darüber gelöst werden.
- 22. Verfahren zur Herstellung der Taxane enthaltenden pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Taxane vor der Emulgierung in den Triglyceriden von Fettsäuren mit 2 22 Kohlenstoffatomen, bevorzugt 4 20 Kohlenstoffatomen vollständig gelöst und anschließend mit Hilfe von 3 sn Phosphatidylcholinen und/oder freien Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen in Wasser zu einer Rohemulsion emulgiert werden und das Gemisch anschließend zu einer Emulsion, bevorzugt mit einer Partikelgröße von weniger als 5 μm, insbesondere unter 1,5 Mikron, homogenisiert wird.

23. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, daß die Alkalisalze freier Fettsäuren in situ durch Umsetzung von Alkalihydroxiden mit freien Fettsäuren hergestellt werden.

24. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß das Gemisch aus Taxanen, Triglyceriden,

Phosphatidylcholin und Wasser bereits

0,01 - 0,15 % an freien natürlichen Fettsäuren und/oder deren Alkalisalzen enthält und dieses Gemisch mittels einer Alkalilauge vor der Emulgierung auf einen pH-Wert von 5 - 10, bevorzugt 7 - 9, eingestellt wird, was auch die Bildung der Alkalisalze bewirkt.

25. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Alkalisalze freier Fettsäuren verwendet werden, um die Emulsion auf einen pH-Wert von 5-10, bevorzugt 7,0-9,0, einzustellen.

26. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß zur Herstellung der pharmazeutischen Zubereitung im wesentlichen sauerstofffreie Lösungen verwendet werden.

27. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß zusätzlich Glycerin und/oder Glukose und/oder Sorbit und/oder Xylit und/oder Fruktose in Mengen verwendet werden,

die geeignet sind, die pharmazeutische Zubereitung isoton zu machen.

28. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß durch intensives Rühren zunächst eine Rohemulsion hergestellt wird und anschließend die endgültige Emulgierung in einem Hochdruck-Homogenisator bei Drücken zwischen 100 - 600 bar erfolgt, wobei vorzugsweise der Hochdruck-Homogenisator mindestens drei Kolben besitzt.

- 29. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Sterilisation der pharmazeutischen Zubereitung durch Hitzesterilisation in einem Rotationsautoklaven erfolgt.
- 30. Verwendung der pharmazeutischen Zubereitung nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche zu intravenösen Applikation, vorzugsweise zur intravenösen Injektion und/oder Infusion.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ir ational Application No PCT/EP 99/07059

		PC	T/EP 99/07059 _
A. CLASSI IPC 7	FICATION OF SUBJECT MATTER A61K31/335 A61K9/107		
According to	o International Patent Classification (IPC) or to both national clas	sification and IPC	
	SEARCHED		
Minimum do IPC 7	ocumentation searched (classification system followed by classif A61K	ication symbols)	
Documenta	ation searched other than minimum documentation to the extent t	nat such documents are included	in the fields searched
Electronic d	data base consulted during the international search (name of dat	a base and, where practical, sear	ch terms used)
	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of th	e relevant passages	Relevant to claim No.
Υ	WO 96 02247 A (HEMAGEN PFC) 1 February 1996 (1996-02-01) cited in the application claims		1-30
Υ	EP 0 570 829 A (DIETL HANS) 24 November 1993 (1993-11-24) claims		1-30
Y	EP 0 760 237 A (CIPLA LIMITED) 5 March 1997 (1997-03-05) page 3, line 13 - line 15		1-30
A	WO 94 07484 A (RES CORP TECHNO) 14 April 1994 (1994-04-14) page 3, line 8 - line 33	LOGIES INC)	1-30
		-/	
χ Furt	ther documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family mem	bers are listed in annex.
° Special ca	ategories of cited documents :	"T" later document published	after the international filing date
consid	ent defining the general state of the art which is not dered to be of particular relevance document but published on or after the international	or priority date and not cited to understand the invention	in conflict with the application but principle or theory underlying the elevance; the claimed invention
filing of "L" docume which citatio	date ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another on or other special reason (as specified)	cannot be considered in involve an inventive ste "Y" document of particular re cannot be considered to	lovel or cannot be considered to be when the document is taken alone blevance; the claimed invention o involve an inventive step when the
other "P" docum	nent referring to an oral disclosure, use, exhibition or means earn published prior to the international filling date but than the priority date claimed	ments, such combination the art.	with one or more other such docu- on being obvious to a person skilled
	actual completion of the international search	"&" document member of the	nternational search report
8	B December 1999	28/12/1999)
Name and	mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2	Authorized officer	
	NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Seegert, k	<

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ti :ational Application No
PCT/EP 99/07059

	ion) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	To L		
Category °	Citation of document, with Indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
P,Y	WO 99 04787 A (DAVIS STANLEY STEWART ;DANBIOSYST UK (GB); HAN JIHONG (GB)) 4 February 1999 (1999-02-04) claims	1-30		
	• ,			

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

I national Application No PCT/EP 99/07059

Patent document cited in search report		t	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	9602247	Α	01-02-1996	US	5616330 A	01-04-1997
				AU	690299 B	23-04-1998
				AU	2872095 A	16-02-1996
				CA	2194226 A	01-02-1996
				EP	0768876 A	23-04-1997
				IL	114212 A	14-07-1999
				JP	10502921 T	17-03-1998
EP	0570829	A	24-11-1993	DE	4315921 A	25-11-1993
				JP	6279307 A	04-10-1994
				US	5527537 A	18-06-1996
	•			บร	5637317 A	10-06-1997
EP	0760237	A	05-03-1997	AU	706995 B	01-07-1999
				AU	6216296 A	06-03-1997
			•	US	5929030 A	27-07-1999
WO	9407484	Α	14-04-1994	US	5407683 A	 18-04-1995
				AU	5441094 A	26-04-1994
WO	9904787	Α	04-02-1999	 AU	8456198 A	16-02-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

in utionales Aktenzeichen PCT/EP 99/07059

KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES PK 7 A61K31/335 A61K9/107 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK **B. RECHERCHIERTE GEBIETE** Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Kategorie* Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile Betr. Anspruch Nr. γ WO 96 02247 A (HEMAGEN PFC) 1 - 301. Februar 1996 (1996-02-01) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche γ EP 0 570 829 A (DIETL HANS) 1 - 3024. November 1993 (1993-11-24) Ansprüche EP 0 760 237 A (CIPLA LIMITED) 1 - 305. März 1997 (1997-03-05) Seite 3, Zeile 13 - Zeile 15 Α WO 94 07484 A (RES CORP TECHNOLOGIES INC) 1-30 14. April 1994 (1994-04-14) Seite 3, Zeile 8 - Zeile 33 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu Siehe Anhang Patentfamille Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung tür einen Fachmann nahellegend ist soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist Datum des Abschlusses der internationalen Recherche Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 8. Dezember 1999 28/12/1999 Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Bevollmächtigter Bediensteter Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni, Seegert, K Fax: (+31-70) 340-3016

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In stionates Aktenzeichen
PCT/EP 99/07059

C (Forton	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	FC1/EP 99/0/059			
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	nden Teile	Setr. Anspruch Nr.		
Р,Ү	WO 99 04787 A (DAVIS STANLEY STEWART; DANBIOSYST UK (GB); HAN JIHONG (GB)) 4. Februar 1999 (1999-02-04) Ansprüche		1-30		
	·	٠			
	<u>.</u>				
	·				

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamille gehören

r ationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/07059

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument			Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO	9602247	A	01-02-1996	US	5616330 A	01-04-1997
				AU	690299 B	23-04-1998
				AU	2872095 A	16-02-1996
				CA	2194226 A	01-02-1996
				EP	0768876 A	23-04-1997
				IL	114212 A	14-07-1999
				JP	10502921 T	17-03-1998
EP	0570829	Α	24-11-1993	DE	4315921 A	25-11-1993
				JP	6279307 A	04-10-1994
				US	5527537 A	18-06-1996
				US	5637317 A	10-06-1997
EP	0760237	Α	05-03-1997	AU	706995 B	01-07-1999
				AU	6216296 A	06-03-1997
				US	5929030 A	27-07-1999
WO	9407484	Α	14-04-1994	US	5407683 A	18-04-1995
				AU	5441094 A	26-04-1994
WO	9904787	Α	04-02-1999	AU	8456198 A	16-02-1999